СЕКЦІЯ МОРФОЛОГІЯ

МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ТА МЕТОДІВ ДИФЕРЕНЦІЙНОГО ФАРБУВАННЯ ХРОМОСОМ

MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF STRUCTURAL ORGANIZATION AND METHODS OF DIFFERENTIAL STAINING OF CHROMOSOMES

Synenko V.A., Drizhak N.V., Ahashkov Ye.O., Prof. Hasiuk A.P. M.D., Assoc. Prof. Sovhyrya S.M., M.D.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»
Кафедра патологічної анатомії з секційним курсом

Актуальність. Питання про будову і функціонування матеріальних основ спадковості − хромосом − є одним з ключових питань генетики людини.

Для правильного розуміння значення спадковості в патології людини необхідно знати особливості морфологічної будови і хімічного складу хромосом і каріотипу в цілому.

Мета: вивчити рівні суперспіралізації ДНК та будову хромосом людини, ознайомитися з основними принципами цитогенетичного аналізу та диференційного фарбування хромосом, розуміти його значення в діагностиці хромосомних хвороб.

Матеріали та методи. Для проведення цитогенетичного дослідження використано культури лімфоцитів периферичної крові та фібробластів людини. Для стимуляції клітинного поділу додавали фітогемаглютинін. Через деякий час додавали колхіцин, з метою зупинки процесу мітозу на стадії метафази. Потім клітини оброблялися гіпотонічним розчином. В результаті утворилися метафазні пластинки. Препарати метафазних хромосом забарвлювали для подальшої ідентифікації одним з методів диференціального фарбування.

Результати дослідження. Провівши електронно-мікроскопічне дослідження було виміряно розміри хроматину на кожному з його рівнів організації. Перший структурно-функціональний рівень – укладка ДНК на гістонові білки з утворенням нуклеосоми діаметр якої становить 10 нм. Нуклеосоми в свою чергу формують спіральні витки на один виток такої суперспіралі доводиться 6-7 нуклеосом в результаті цього утворюється хроматинова фібрила (соленоїд) діаметром 30 нм. На наступному етапі фібрила формує петлі, які прикріплюються до «скелету» з негістонових кислих білків, зв'язуючи 80 тис. нуклеотидних пар формується петлевий домен діаметр якого 300 нм. На даному етапі вже можлива експресія генів, тому петлевий домен є не тільки структурним, а і функціональним утворенням. Він в свою чергу формує хроматиду діаметром 700 нм. На останньому етапі дві хроматиди формують хромосому діаметром 1400 нм, таким чином досягається максимальний рівень компактизації ДНК. Після проведення диференційного фарбування хромосом за допомогою G та C бендінгу із застосуванням фарбника Романовського-Гімзи отримали поперечну смугастість хромосом, при чому G ділянки відповідають еухроматину, а C диски – факультативному гетерохроматину. Оскільки еухроматин функціонально активний його конденсація менша, ніж в гетерохроматину, тому нами допускається гіпотеза, що еухроматинові ділянки за структурною організацією відповідають петлевому домену, а гетерохроматинові – хроматидному рівню організації ДНК.

Висновок. Проведені дослідження дають підстави для таких висновків, на кожному з етапів організації ДНК іде збільшення діаметру функціональних одиниць в 2-3 рази. Нами сформована гіпотеза, що диференційне фарбування хромосом відображає не тільки унікальність поперечної смугастості кожної хромосоми, а і відповідає локусам знаходження еухроматина та гетерохроматина в хромосомах.

ІМУНОГІСТОХІМІЧНИЙ МАРКЕР КІ-67 ЯК ПОКАЗНИК ЕНДОМІТОЗУ РАКОВИХ КЛІТИН

THE IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKER KI-67 AS AN INDICATOR OF CANCER CELLS ENDOMITOSIS

Ahashkov Ye.O., Prof. Hasiuk A.P., Assoc. Prof. Sovhyrya S.M., M.D.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»
Кафедра патологічної анатомії з секційним курсом

Маркер КІ-67 широко використовується в онкологічній практиці як показник проліферації пухлини. Більш відомі раніше мітки з міченим радіоактивним тритієм можливі лише в експериментальних дослідженнях. На цитологічному матеріалі зараз використовується метод забарвлення бромурацилом, який дозволяє встановити патологію реплікації хромосом при типовому відкритому мітозі. Проте при закритому ендомітозі, коли зберігається ядерна мембрана, що постійно відбувається в ракових клітинах, цей метод малоінформативний. Враховуючи вище визначене нами проведене імуногістохімічне вивчення маркеру Кі-67 в ендомітотичних ракових клітинах бронхогенного раку легень.

Одержані мікрофотографії ракових ендомітотичних клітин в залежності від локалізації маркеру співставлялися з даними цього процесу ендоредуплікації Прокоф`євої-Бельговської. Встановлено, що в залежності від стадій ендомітозу існують різні зображення ядра. В стадії профази поряд із збереженим статевим гетерохроматином визначаються тонкі та товсті нитки хромосом. Стадія метафази визначається збереженням статевого хроматину та наявністю збільшених хромосом поблизу ядерної мембрани та в центрі ядра. Анафаза при ендомітозі майже не зустрічається завдяки збереженій ядерній мембрані, а телофаза проявляється наявністю багатоядерних клітин.

Отже, маркер Кі-67 є інформативним показником ендомітозу ракових клітин.